

الباب الأول
المجاهر الضوئية
LIGHT MICROSCOPES

obeikandi.com

تركيب واستخدام المجاهر الضوئية
CONSTRUCTION AND OPERATION
OF LIGHT MICROSCOPES

- المجهر الضوئي البسيط
- المجهر الضوئي المركب
- مجهر الأشعة فوق البنفسجية
- مجهر الحقل المظلم
- مجهر الأطوار المتباينة
- المجهر الفلورسيني
- المجهر المقلوب

obeikandi.com

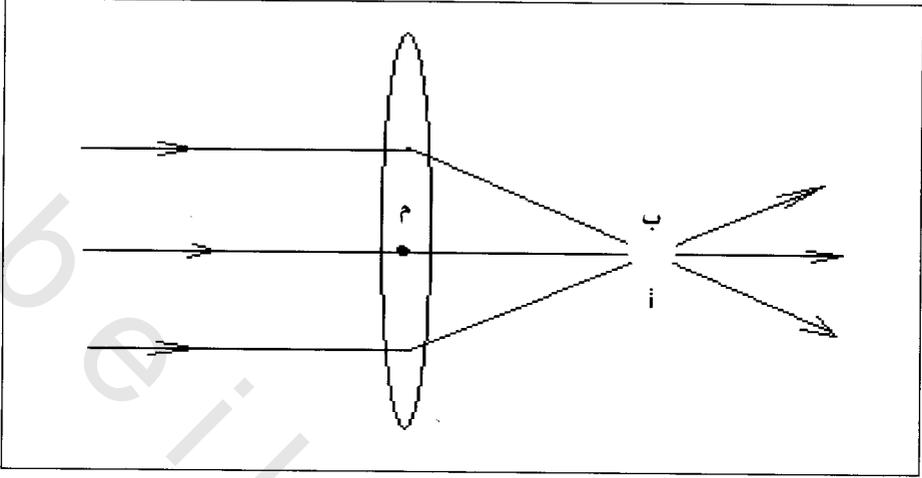
تمهيد

إن العلاقة بين سرعة الضوء في الفراغ وسرعته في أي وسط آخر تعرف بمعامل الانكسار n (refractive index). ويكون معامل الانكسار لوسط ما مساويا سرعة الضوء في الفراغ / سرعته في هذا الوسط. ولكل وسط معامل انكسار خاص به. ولأن سرعة الضوء في الفراغ تقترب كثيرا من سرعة الضوء في الهواء فإن معامل انكسار الهواء $n = 1$. وأشعة الضوء تنكسر عندما ينتقل الضوء بين وسطين مختلفين في معامل انكسارهما بشرط أن لا تسقط هذه الأشعة عموديا على الوسط.

عندما تسقط أشعة ضوئية متوازية على سطح عدسة محدبة فإنها تنكسر بحيث تتلاقى جميعها في نقطة واحدة خلف العدسة، هذه النقطة تعرف بالبؤرة f (شكل ١). والمسافة بين البؤرة والمركز البصري للعدسة تعرف بالبعد البؤري f وهو يساوي نصف قطر الكرة التي قطعت منها العدسة (نق / ٢)، وهذا يعني أن العدسة المقطوعة من كرة صغيرة يكون بعدها البؤري قصير والعكس صحيح.

وقد استخدمت العدسات المحدبة في تكوين صور مكبرة للأجسام التي تقع أمام أو خلف البؤرة، وكلما قرب الجسم المراد تكبيره من البؤرة زاد التكبير، ولكن إذا وقع الجسم في البؤرة تماما فإن الصورة تتكون في ما لا نهاية (لمعرفة دور العدسات في تكبير الأشياء بالمجاهر المركبة دقق النظر في شكل ٤).

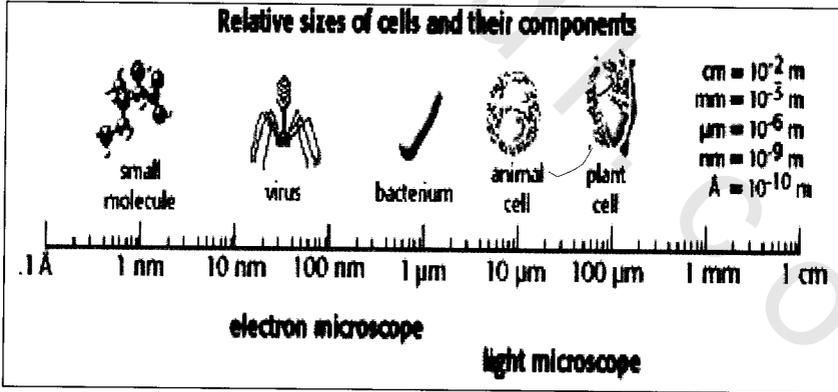
ومن هذه الحقائق المبسطة تولدت أفكار صناعة المجاهر البسيطة والمركبة ثم تطورت تكنولوجيا المجاهر حتى صنعت المجاهر الإلكترونية. ولكل نوع من المجاهر تركيب ووظيفة خاصة، ويتوقف استخدام أي منها على الهدف من الدراسة وكذلك على حجم العينة التي يتم فحصها (شكل ٢). فقد تهتم الدراسة بالشكل الظاهري للعينة فقط أو تطلب فحصاً داخلياً للخلايا وتوضيح تفاصيل غاية في الدقة.



(شكل ١) إنكسار الأشعة الضوئية عند مرورها خلال عدسة محدبة.

م: مركز العدسة ب: البؤرة ب م: البعد البؤري للعدسة

(لاحظ أن الشعاع الذي يمر بالمركز البصري للعدسة لا ينكسر)



(شكل ٢)

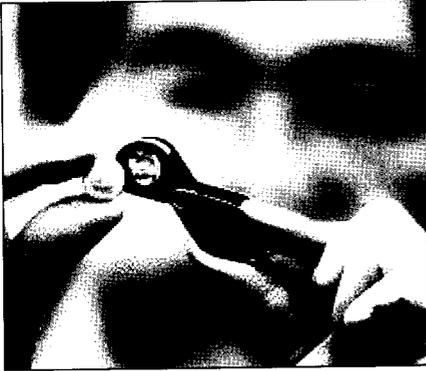
الحجوم النسبية لبعض الخلايا

ومدى إمكانية فحصها بالمجهر الضوئي أو الإلكتروني

المجهر الضوئي البسيط SIMPL LIGHT MICROSCOPE

المجاهر البسيطة والتي تعرف بالمكبرات (شكل ٣) وتستخدم منذ زمن طويل وحتى يومنا هذا تحتوي على عدسة محدبة واحدة فقط تستخدم في تكبير الأشياء المراد فحصها. والمجاهر البسيطة رغم أنها تعطي صورة مكبرة حقيقية وتستخدم في مجالات كثيرة إلا أن أهم عيوبها:

١. البعد البؤري focal length لها يقل كلما زادت قوة التكبير مما يتعذر معه رؤية الأشياء المفحوصة بوضوح تام.
٢. حقول الرؤية فيها محدودة وتوجد صعوبة في تحميل وإضاءة العينة.
٣. قوة تكبير هذه المجاهر تتراوح فقط بين ٥ - ٢٥ مرة.
٤. عيوب متعلقة بالزيغ اللوني أو الدائري.



(شكل ٣)

صورة تبين استخدام العدسات المحدبة
منفردة كمجاهر بسيطة لتكبير الأشياء

وقد تم التغلب على هذه العيوب في بداية القرن السادس عشر وذلك بإضافة مجموعة أخرى من العدسات ذات مواصفات خاصة عرفت بالعدسات العينية فكان المجهر المركب.

المجهر الضوئي المركب COMPOUND LIGHT MICROSCOPE

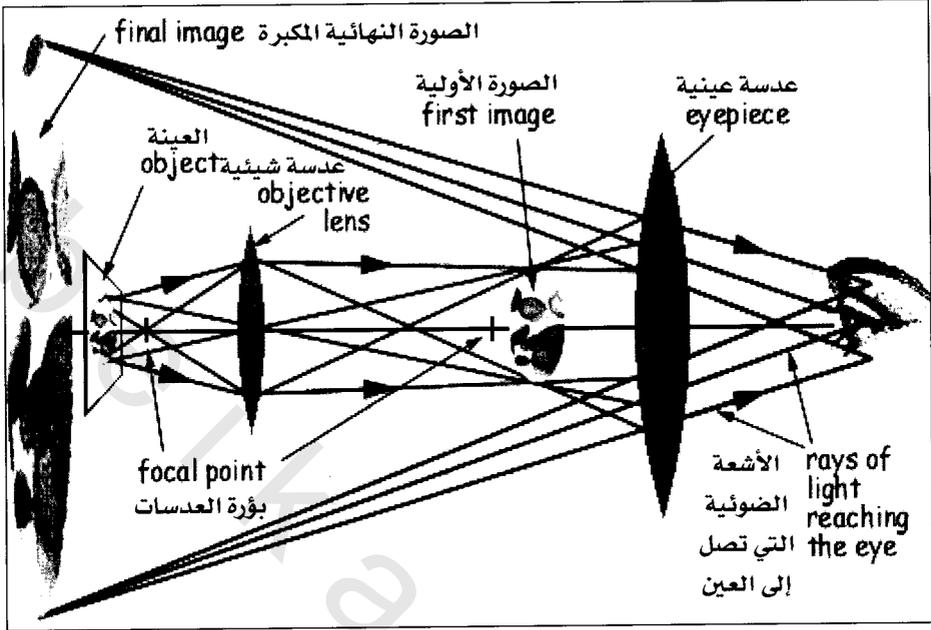
وحدة التكبير في هذا النوع من المجاهر تتألف من مجموعتين من العدسات:

المجموعة الأولى: هي العدسات الشيئية objective lenses وهي القريبة من الشيء المراد فحصه، ووظيفتها تكوين منظر مكبر للشيء المفحوص ويعرف التكبير الناتج من هذه العدسات بالتكبير الأولي Primary magnification ولكل نوع من هذه العدسات قوة تكبير مسجلة عليها.

المجموعة الثانية: هي العدسات العينية ocular lenses وهي التي تنظر العين من خلالها، ووظيفتها تكوين منظر نهائي بتكبير مناسب (شكل ٤).

مميزات المجهر الضوئي:

يجب أن يتميز المجهر بقوة تكبير مناسبة بحيث يكبر الأشياء تكبيراً كافياً لتميز التفاصيل الدقيقة، كما يجب أن يكون المنظر المتكون على مستوى عالٍ من الوضوح وقوة التمييز.



(شكل ٤)

رسم تخطيطي يوضح كيفية تكبير الأشياء بالمجهر الضوئي المركب

قوة الوضوح **Clearness power**: تعتمد على نوعية العدسات، حيث إن العدسات العادية غالباً ما تعاني من الزيغ اللوني chromatic aberration أو الزيغ الكروي spherical aberration، والزيغ ينتج من كون العدسات الزجاجية غير قادرة على تجميع الأشعة الضوئية في نقطة واحدة، أو نتيجة لفصل مكونات أشعة الضوء. ولقد أمكن تصحيح هذا الزيغ جزئياً باستعمال مكثف تحت المسرح substage condenser أكثر تطوراً يشابه المكثف اللوني chromatic condenser، فهذا المكثف ذو قدرة عالية على تمرير مخروط ضوئي يتناسب تماماً مع الفتحة العددية للعدسة الشيئية المستخدمة، ولديه كفاءة عالية أيضاً في تصحيح كل من الزيغ اللوني والكروي.

أما قوة التمييز **Resolving power**: فهي تمثل أقل مسافة ممكنة بين نقطتين، بحيث تبدو كل نقطة منهما منفصلة عن الأخرى بوضوح (وليست مدمجة معها) وذلك عند فحصها بالمجهر. وهذا يعني أنه كلما قلت هذه المسافة (R) كانت قوة التمييز أعلى (شكل ٢).

ويتضح من نتائج المعادلة التالية أن قوة التمييز تتناسب عكسياً مع الطول الموجي للضوء المستخدم فكلما قصر الطول الموجي للضوء المستخدم زادت قوة التمييز (قلت المسافة بين النقطتين)؛ ولذلك تم استخدام الأشعة الإلكترونية ذات الطول الموجي القصير جداً في المجاهر الإلكترونية، كما تتناسب هذه القوة طردياً مع قيمة الفتحة العددية numerical aperture للعدسة الشيئية objective lens.

ويمكن حساب أقصر مسافة بين نقطتين يمكن للعدسة التمييز بينهما (R) بالمعادلة الآتية:

$$R = L / NA$$

حيث L الطول الموجي للضوء المستخدم

NA قيمة الفتحة العددية للعدسة

والفتحة العددية للعدسة الشيئية تمثل قدرة العدسة على تجميع الضوء المار خلال العينة:

القيمة العددية للعدسة = جيب نصف زاوية القبول للعدسة × معامل انكسار الوسط بين العدسة والعينة. ويمكن التعبير عنها بالمعادلة التالية:

$$NA = n \times r / H$$

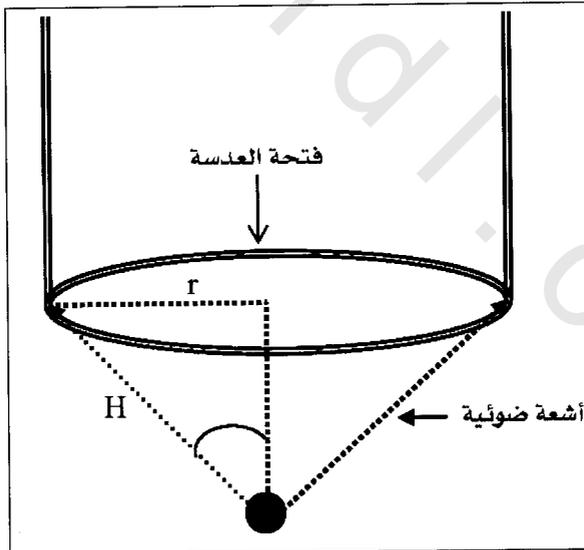
حيث n معامل انكسار الوسط.

r/H جيب نصف زاوية القبول للعدسة (شكل ٥).

r طول الضلع المقابل لنصف زاوية القبول.

H طول الشعاع الضوئي الداخل في العدسة الذي يصنع أحد ضلعي زاوية القبول وهو وتر للمثلث الوهمي التي تصنعه نصف زاوية القبول للعدسة.

وبما أن معامل انكسار الهواء = 1 فإن هذه القيمة لأي عدسة جافة ستكون مساوية لجيب نصف زاوية القبول، ونصف أكبر زاوية قبول لن يزيد عن 90° ؛ ولأن جيب هذه الزاوية = 1 فإن أكبر قيمة عددية لفتحة العدسات الجافة تكون 1. وعملياً تكون أكبر قيمة عددية لعدسة جافة 0.95. أما في حالة العدسات الزيتية تصل قيمة الفتحة العددية إلى 1.4 تقريباً، ويرجع ذلك إلى استخدام زيت سيذر ذي معامل انكسار يعادل معامل انكسار الزجاج (1.52).



(شكل ٥) جيب نصف زاوية القبول للعدسة الشبئية = r/H

تركيب المجهر الضوئي المركب

يتركب أي مجهر مركب من ثلاث أنظمة رئيسية (شكل ٦):

١- نظام الحمل والتحرك **Mounting and movement system**

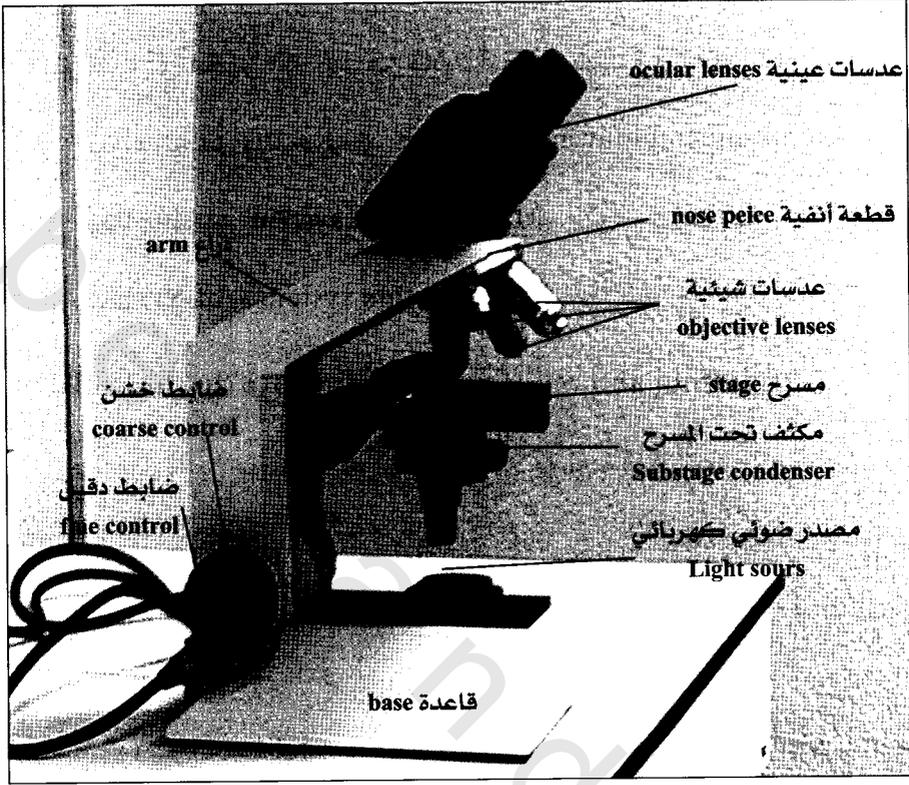
٢- نظام التكبير **Magnification system**

٣- نظام الإضاءة **Illumination system**

أولاً : نظام الحمل والتحرك Mounting and movement system :

وهو عبارة عن مجموعة من القطع المعدنية تحمل وتدعم أجهزة التكبير والإضاءة وهذه المجموعة تتألف من:

- قاعدة **Base**: يرتكز عليها المجهر ويمتد منها ذراع لحمل **arm** على شكل حرف C أو L.
- مسرح **Stage**: وهو قطعة معدنية مربعة أو دائرية توضع عليها الشريحة المراد فحصها.
- قطعة أنفية **Nose piece**: وهي قطعه معدنية مستديرة قابلة للدوران ومتصلة بنهاية الذراع تحمل العدسات الشيئية.
- ضوابط تحريك **movement control**: توجد على الذراع ويتم بواسطتها التحكم في رفع أو خفض مسرح المجهر بشكل سريع بواسطة تحريك الضابط الخشن **coarse control** أو بلطف بواسطة تحريك الضابط الدقيق **fine control**.



شكل (٦) صورة للمجهر الضوئي المركب

ثانياً: نظام الإضاءة Illumination system :

لقد تطور مصدر الإضاءة المستخدم في المجاهر من استخدام ضوء الشمس والشموع والقناديل بواسطة مرآة عاكسة إلى أن أصبح مصباحاً كهربائياً مثبت في قاعدة المجهر. ونظراً لأن شدة الإضاءة تلعب دوراً هاماً في الرؤية المجهرية فإن المصدر الضوئي يزود بجهاز يتحكم في شدة الضوء يعرف بضابط شدة الضوء light intensity control. الأشعة الضوئية المنبعثة من المصباح الكهربائي تركز باتجاه المكثف بواسطة عدسة أو منشور خاص يقع فوق المصباح مباشرة تعرف بعدسة الضوء light lens، يتم التحكم في

كمية الأشعة المنبعثة من المصباح بواسطة حجاب حقلي field diaphragm مثبت فوق عدسة الضوء، كما يوجد قرص يحيط بعدسة الضوء به مرشحات الضوء الملونة colour filters وهذا القرص يسمى قرص المرشحات disc filter. ومهما كان نوع الإضاءة المستخدمة فلا بد من استخدام ما يعرف بالمكثف تحت المسرح substage condenser حيث يقوم هذا المكثف بتجميع الأشعة الضوئية وتكثيفها في نقطة معينة على العينة؛ مما يسهل رؤية تفاصيلها الداخلية. يتكون المكثف عادة من أنبوب معدني يحتوي على نوعين أو أكثر من العدسات الضوئية، الأولى توجد في قمة المكثف وتسمى عدسة المكثف العلوية condenser's top lens والثانية توجد في أسفل المكثف وتسمى عدسة المكثف السفلية أو العدسة الرئيسية main lens.

المكثف مزود بالعديد من الضوابط والمعدات الثانوية التي تساعد على فعاليتها في تجميع أشعة الضوء ومن هذه الضوابط:

- ضابط خاص برفع أو خفض مستوى المكثف يسمى ضابط المكثف Condenser control.
- ضابطان يتم بواسطتهما التحكم في توسيط المكثف مع مسار الأشعة الضوئية Condenser centering focus.
- حجاب حدقي Iris diaphragm لتحديد إضاءة مساحة الحقل field بشكل دقيق ومناسب.

ثالثاً: نظام التكبير Magnification system:

عبارة عن مجموعة من العدسات المكبرة الموجودة في المجهر وهذه العدسات هي العدسات العينية والعدسات الشيئية.

• العدسات الشيئية Objective lenses:

مجموعة من العدسات تركيب على القطعة الأنفية nose piece الدوارة ويمكن تركيب ثلاث إلى أربع عدسات شيئية ذات قوى تكبير مختلفة. وحسب قوة التكبير يمكن تصنيف العدسات الشيئية إلى ثلاثة أنواع:

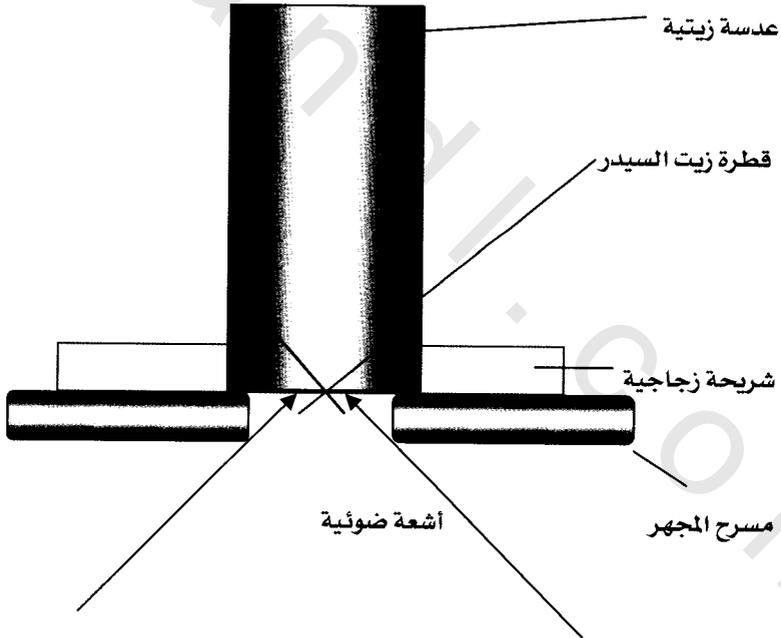
1. عدسات ذات قوة تكبير منخفضة Low power objectives قوة تكبيرها من ٢-١٠ مرات
2. عدسات ذات قوة تكبير عالية High power objectives قوة تكبيرها من ٤٠-٨٠ مرة
3. عدسات زيتية Oil immersion objectives قوة تكبيرها من ٨٠-١٠٠ مرة.

النوع الأول والثاني تسمى عدسات جافة dry lenses، أما النوع الثالث فتسمى عدسات رطبة moist lenses حيث يجب وضع قطرة من الزيت (مثل زيت السيدر) على منطقة فحص العينة بالشريحة، وأهمية هذا الزيت هو منع انحراف الضوء وبالتالي دخوله مجمعا في العدسة الشيئية؛ وذلك لأن معامل انكسار الزيت يساوي معامل انكسار الزجاج 1.52 (شكل ٧).

ملحوظة: إذا انتقل الضوء من وسط ذي معامل انكسار أعلى إلى وسط ذي معامل انكسار أقل فإنه ينحرف ناحية الوسط ذات معامل الانكسار الأعلى. يلاحظ أن العدسة الشيئية كلما زادت قوة تكبيرها صغرت عدستها وزاد طولها وزادت القيمة العددية المكتوبة عليها، وكذلك قصرت المسافة بين عدستها الأمامية والعينة تحت الفحص، وتمتاز العدسات الشيئية العالية التكبير high power objectives بأن عدساتها الأمامية تكون مركبة على زنبرك spring طري وذلك لحمايتها والحد من تلفها بسرعة.

يكتب على كل عدسة شبيئية أربعة مدلولات حسابية مختلفة:

- الأرقام العليا اليسرى تمثل قوة تكبير العدسة والأرقام العليا اليمنى تمثل القيمة العددية لفتحة العدسة وبينهما خط مائل (/)
- الأرقام السفلية اليسرى تمثل طول الأنبوب الخاص بالعدسة والأرقام السفلية اليمنى تمثل سمك غطاء الشريحة الزجاجية النهائي الأمثل الواجب استخدامه مع العدسة ذاتها وبين الرقمين خط مائل (/). وتعتمد قوة تكبير العدسة الشبيئية على كلا من طول الأنبوب الخاص بالعدسة والبعد البؤري للعدسة. فإذا كان البعد البؤري للعدسة يساوي 16 mm وكان طول الأنبوب 160 mm فإن قوة تكبير العدسة تكون $10 = 160 / 16$.



(شكل ٧) رسم تخطيطي يوضح دور زيت السيدر في تجميع الأشعة الضوئية المارة من العينة والشريحة الزجاجية إلى داخل العدسة الشبيئية (العدسة الزيتية)

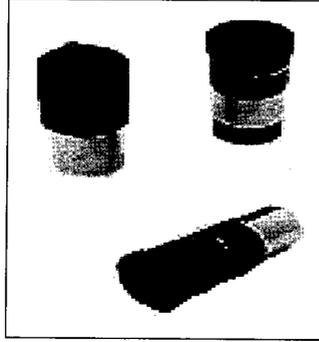
• العدسات العينية Ocular lenses:

بعض المجاهر تحتوى على عدسة عينية واحدة mono ocular
microscopes وبعضها الآخر به عدستان من العدسات العينية biocular
microscopes، والعدسة العينية عبارة عن أنبوب قصير طوله حوالي 4 cm
وقطره حوالي 2.5 cm يعرف بأنبوب العدسة العينية، في بداية هذه الأنبوب
توجد عدسة صغيرة محدبة مستوية Plano-convex lens تسمى عدسة العين
eye lens وفي نهاية هذا الأنبوب توجد عدسة أخرى مشابهة تسمى عدسة
الحقل field lens وبين العدستين أو أسفلهما يوجد حجاب حقلي field
diaphragm وهو عبارة عن حاجز ذي فتحة مركزية قطرها 8 mm تحد من
مجال رؤية الحقل.

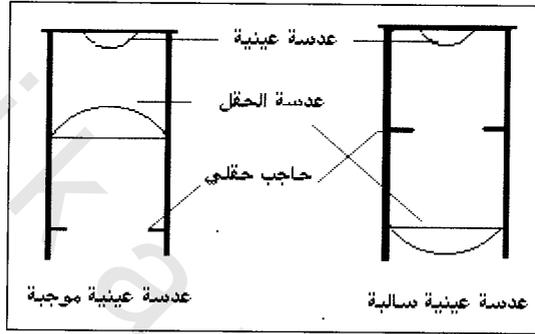
ويمكن تصنيف العدسات العينية المعروفة إلى نوعين (شكل ٨):

١- عدسة عينية سالبة negative eye lens وفيها يكون السطح المحدب
لكل من عدسة العين وعدسة الحقل دائما باتجاه العدسة الشيئية، ويكون
الحجاب الحقلي بين العدستين. وهذا النوع هو الموجود في معظم المجاهر
الضوئية

٢- عدسة عينية موجبة positive eye lens وفيها يكون السطح المحدب
لكل من عدسة العين وعدسة الحقل متقابلين للداخل، ويكون الحجاب
الحقلي أسفل العدسة الحقلية. يستخدم هذا النوع من العدسات مع العدسات
الشيئية عالية التكبير.



A



B

(شكل ٨)

A رسم توضيحي لأنواع العدسات العينية.

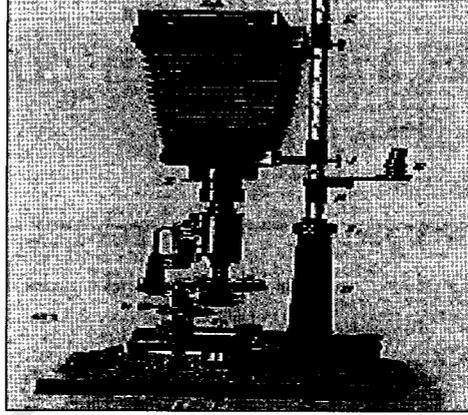
B صورة لعدسات عينية.

مجهر الأشعة فوق البنفسجية

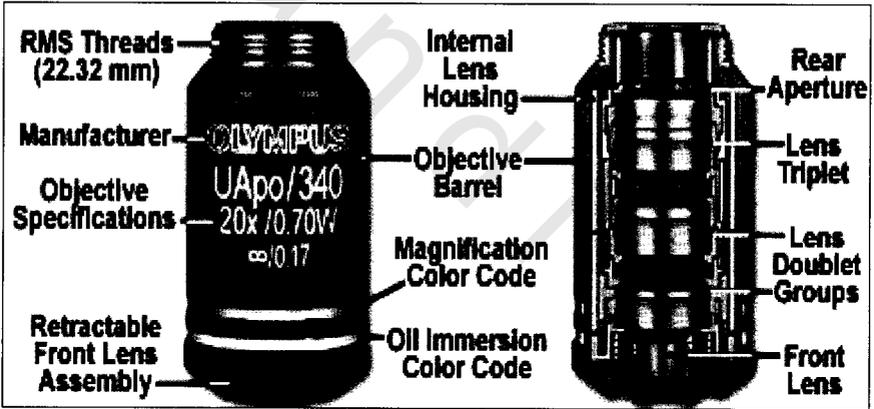
ULTRAVIOLET LIGHT MICROSCOP

تعتمد قوة التمييز resolving power لأي مجهر على الطول الموجي wave length للضوء المستعمل، فكلما زاد الطول الموجي قلت قوة تمييز المجهر (علاقة عكسية). على هذا الأساس قامت فكرة مجهر الأشعة فوق البنفسجية الذي تستعمل فيه الأشعة غير المرئية في الطيف الضوئي، وهي منطقة الأشعة فوق البنفسجية rays ultraviolet. ويختلف هذا المجهر عن المجهر العادي في أن عدساته تتركب من الكوارتز، وهذا النوع من العدسات يمتاز بأنه لا يمتص الأشعة فوق البنفسجية كما تفعل العدسات الزجاجية (شكل ٩). تبلغ قوة تمييز هذه المجاهر 1000 \AA .

A



B



(شكل ٩)

صورة A مجهر الأشعة فوق البنفسجية.

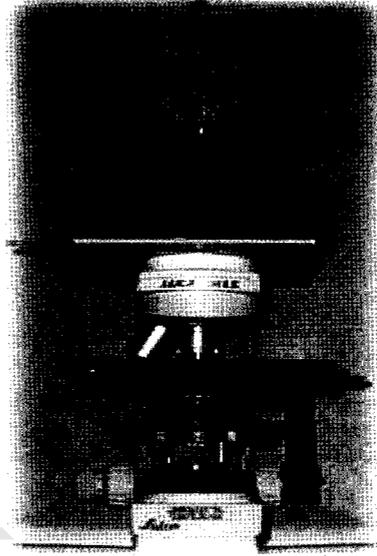
B صورة توضح تركيب العدسة الشيئية لمجهر الأشعة فوق البنفسجية.

مجهر الحقل المظلم

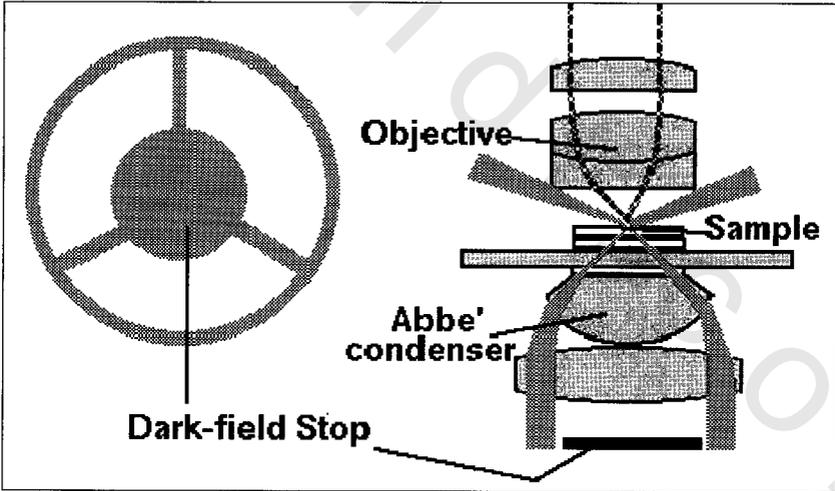
DARK-FIELD MICROSCOPE

يتميز هذا النوع من المجاهر (شكل ١٠) بظهور الأشياء المفحوصة مضيئة بينما يظهر الحقل المجهرى حولها مظلم، وذلك بعكس ما يحدث في المجهر العادي، حيث ترى الأشياء متباينة الإضاءة نتيجة امتصاصها بعض الضوء وعكسها للبعض الآخر. ويحتوي هذا المجهر على مكثف من نوع خاص (مثل مكثف آبي Abbe condenser) يحول الضوء إلى مخروط مجوف يميل بزاوية حادة بحيث تفرق الأشعة بعد اختراقها للعيننة فلا تدخل للعدسة الشيئية مباشرة فيظهر الحقل مظلماً. ولكن عند وجود بعض الأجسام الدقيقة في العيننة فإنها تعكس بعض أشعة الضوء داخل العدسة الشيئية، وبالتالي يمكن رؤيتها كأجسام مضيئة في وسط مظلم. ويستعمل هذا المجهر لرؤية الكائنات الدقيقة micro-organisms مثل بعض أنواع البكتريا (شكل ١١) والسوطيات، وكذلك في فحص الأغشية الدقيقة، وهو من أفضل المجاهر المستخدمة في فحص عينات الدم مباشرة دون صباغته. ويجب أن تكون الشرائح الزجاجية glass slide المستعملة في تحضير العينات للفحص بهذا المجهر نظيفة جداً وخالية من أي خدش أو أي شوائب حتى لا تسبب هذه الأشياء انكسار الضوء.

A



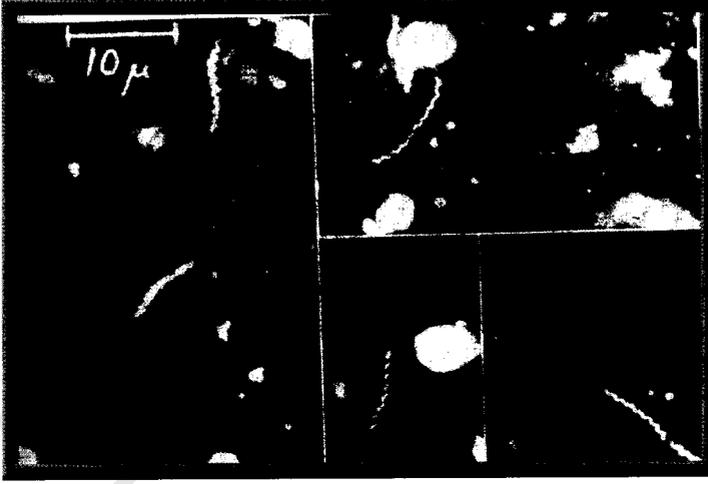
B



(شكل ١٠)

A صورة لمجهر الحقل المظلم

B شكل يوضح آلية عمل مجهر الحقل المظلم



(شكل ١١)

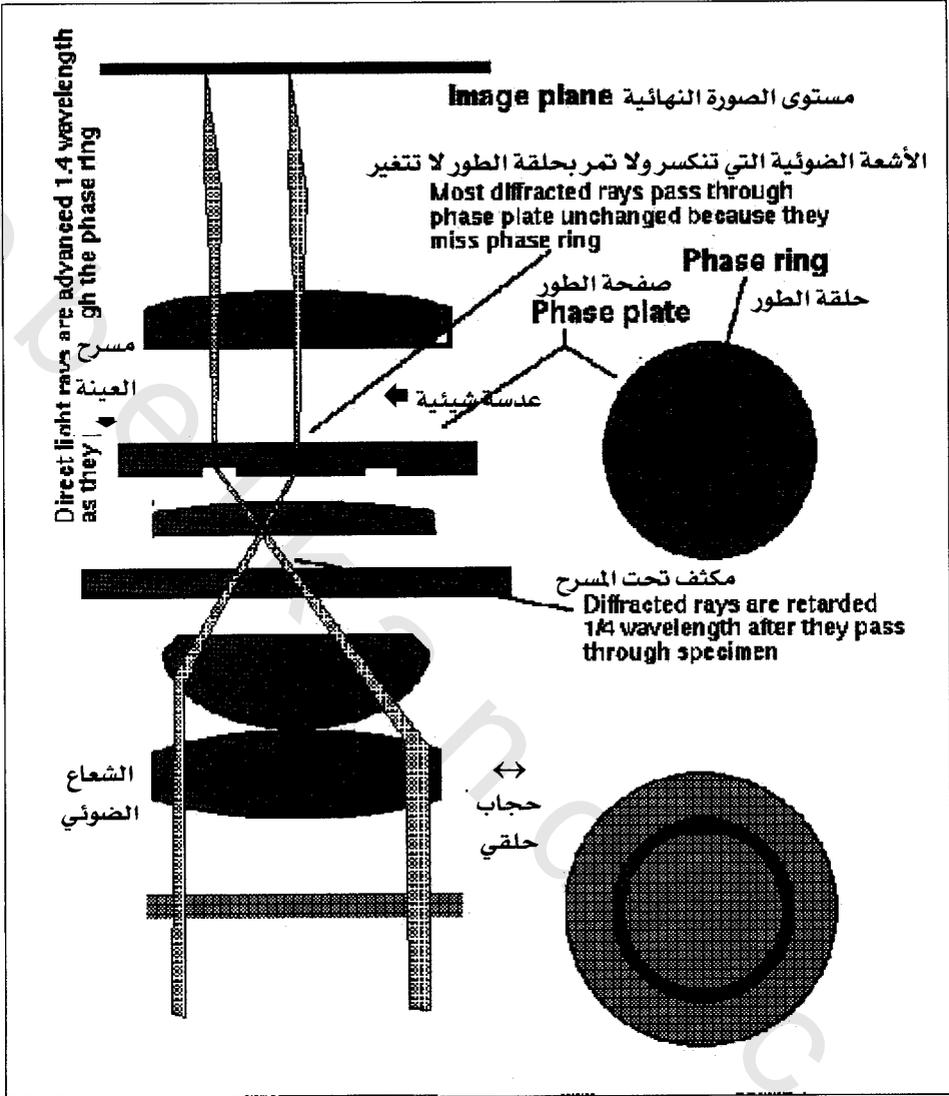
صورة لبكتيريا *Treponema pallidum* التقطت بواسطة مجهر الحقل المظلم

مجهر الأطوار المتباينة

PHASE CONTRAST MICROSCOPE

تعتمد فكرة هذا المجهر (شكل ١٣) على ظاهرة انحراف الضوء light deviation نتيجة اختلاف معامل الانكسار بين المكونات المختلفة للخلية أو النسيج المفحوص. ويمكن لهذا المجهر تحويل هذا التباين الطبيعي الذي لا يمكن تمييزه في المجهر العادي إلى تباين أقوى وأوضح بحيث يمكن رؤية مكونات الخلية أو النسيج دون الحاجة لقتلها أو صبغها.

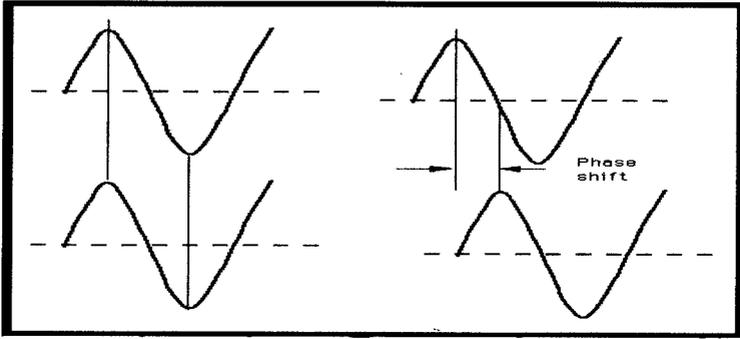
وقد صمم هذا المجهر بإضافة بعض الآليات التي من شأنها التحكم في طبيعة الأشعة الضوئية المنحرفة من العينة؛ وذلك بإضافة قرص زجاجي يعرف بصفيحة الطور phase plate به تجويف على شكل حلقة يعرف بحلقة الطور phase ring، وهذه الصفيحة توجد خلف المستوى البؤرة للعدسة الشيئية، وتتوافق وظيفتها مع حجاب حلقي أسفل المكثف. وبهذه الإضافة أصبح الضوء الجانبي عندما يمر بحلقة الطور يؤخر أو يقدم $1/4$ الموجة الضوئية على ما هي عليه في المركز، وبالتالي ينتج قوة تمييز resolving power أفضل للتفاصيل الدقيقة خاصة في المواد الحية التي يمكن رؤيتها وتصويرها سينمائياً؛ لذلك يستخدم هذا النوع من المجاهر في فحص الخلايا الحية أو الأنسجة غير المصبوغة (شكل ١٢)



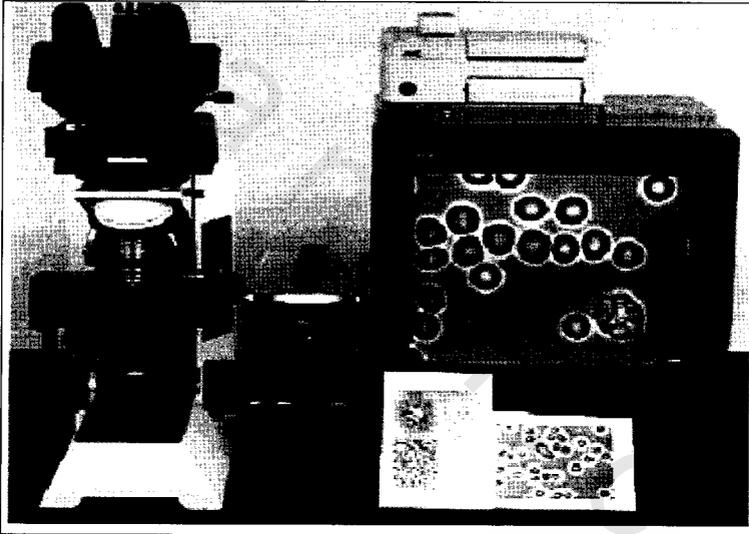
(شكل ١٢)

رسم تخطيطي لقطاع طولي في مجهر الأطوار المتباينة

A



B



(شكل ١٣)

A تباين بمقدار ربع موجة ضوئية بين الشعاعين الجانبي والمركزي

B مجهر الأطوار المتباينة مزود بشاشة عرض تبين خلايا بكتيريا غير مصبوغة

المجهر الفلورسيني

FLOURESCENCE MICROSCOPE

تعتمد فكرة هذا المجهر على أن لبعض المواد خاصية امتصاص الموجات الضوئية القصيرة مثل ألوان الطيف الأزرق والبنفسجي وفوق البنفسجي مما يتسبب في تهيج هذه المواد فتطلق طاقة ضوئية ذات موجة طويلة تكوّن الصورة المكبرة والمعبرة عن هذه المادة.

يوجد نوعان من المجاهر الفلورسينية:

النوع الأول: مجهر الشعاع النافذ Transmitted fluorescence microscope وهو عبارة عن مجهر عادي لكن الإضاءة فيه تتم بواسطة الضوء النافذ transmitted light (شكل ١٤).

النوع الثاني: مجهر الشعاع الساقط Incident fluorescence microscope الإضاءة فيه تتم بواسطة الضوء الساقط incident light

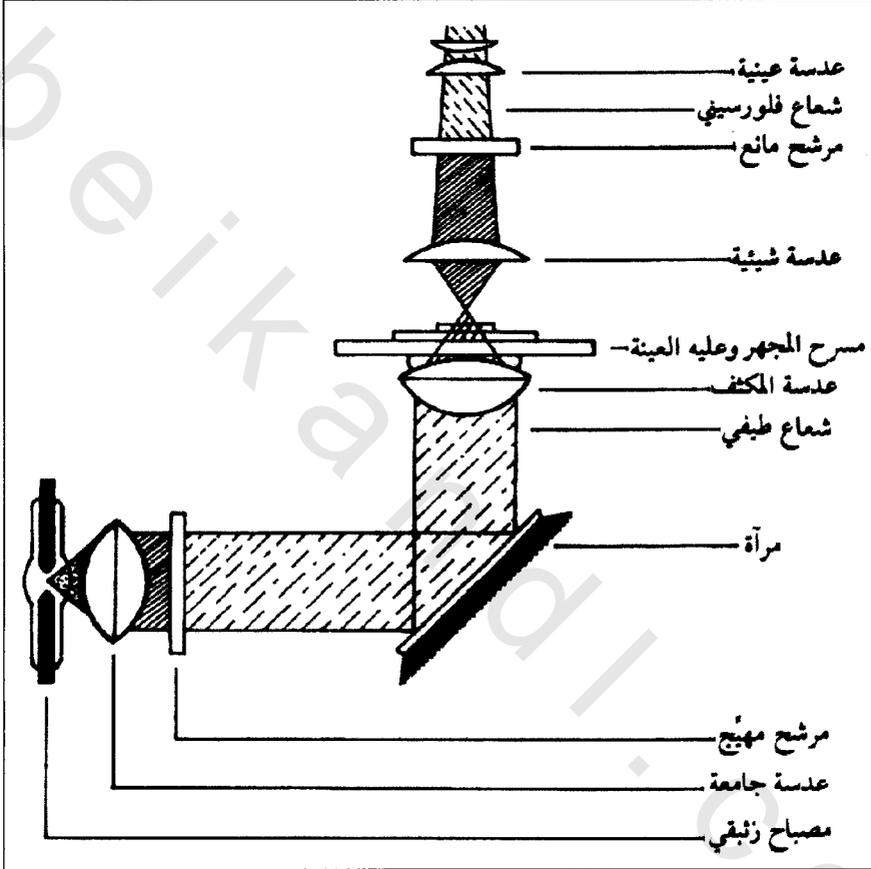
وفي هذا النوع من المجاهر يستخدم الحقل المظلم dark field ليحيط بالصورة الفلورسينية fluorescent image لتكون ذات بريق واضح أكثر مما لو أحيطت بحقل مضيء.

المجهر الفلورسيني ذو الشعاع النافذ مزود بمصباح زئبقي شديد الإضاءة يطلق الأشعة الضوئية في اتجاه مرشح يعرف بالمرشح المهيج exciter filter، وهذا المرشح يسمح لشعاع واحد فقط قصير الموجة بالمرور ليعكس بواسطة مرآة عاكسة باتجاه مكثف المجهر، والذي يركز هذا الشعاع على العينة

المصبوغة فتتهيج وتصدر نوعاً آخر من الشعاع طويل الموجة والذي يمر خلال العدسة الشيئية فالعدسة العينية ترى الصورة البراقة للعينة. لأن كمية من الشعاع قصير الموجه قد تمر من خلال العينة إلى العدسة العينية فتضر بالعين، لذا وجب وضع مرشح مانع barrier filter بين العدستين الشبئية والعينية ليسمح فقط بمرور الشعاع طويل الموجة دون الشعاع قصير الموجة.

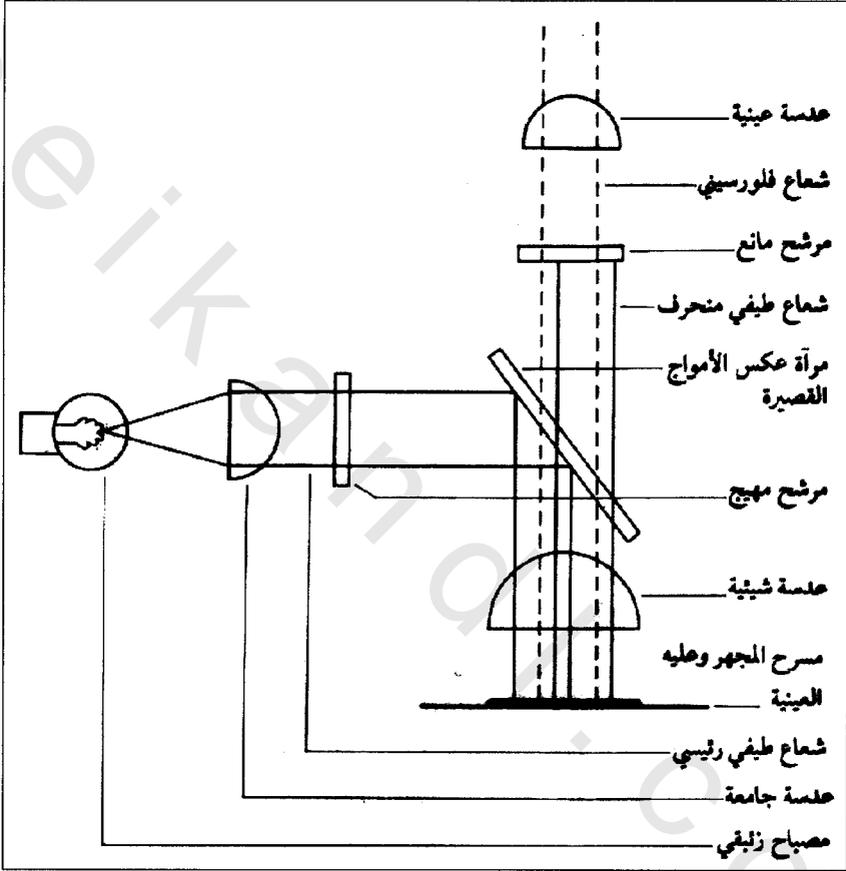
أما في المجهر الفلورسيني ذي الشعاع الساقط فإن الشعاع قصير الموجة المهيج يسقط على العينة من أعلى فتعمل العدسة الشيئية عمل المكثف، ولذلك فإن الشعاع لا يسقط إلا على الجزء من العينة المفحوص بالعدسة الشيئية وليس على جميع معالم العينة. كما أن التهيج لا يحدث إلا للأجزاء السطحية، وهذا يزيد من تألق الصورة نظراً لعدم فقدان كمية من الفلورة نتيجة امتصاص العينة لها بشكل عام. بعد أن تتهيج العينة تنطلق الموجات الطويلة والتي تأخذ مسارها من العينة إلى العدسة الشيئية فالمرشح المانع فالعدسة العينية.

للمجهر الفلورسيني عموماً دور هام في دراسة وتصنيف الكروموسومات الخلوية cellular chromosomes وكذلك في دراسة الأجسام المضادة antibodies والخلايا السرطانية malignant cells. الأجسام المضادة التي تتولد ثم تتحد مع أي جسم غريب يدخل الجسم، تتحد أيضاً مع الصبغات التي تتفلور (تتهيج) عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية. لذلك إذا غمر قطاع في محلول يحتوى على الأجسام المضادة الفلورسينية الخاصة بنوع معين من مادة معينة يراد الكشف عنها في القطاع، فإن الجسم المضاد الفلورسيني سيتحد مع جزيئات تلك المادة، وبالتالي فإنه يمكن تحديد أماكن هذه المادة في القطاع بعد إضاءتها بالأشعة فوق البنفسجية وباستخدام هذا النوع من المجاهر.



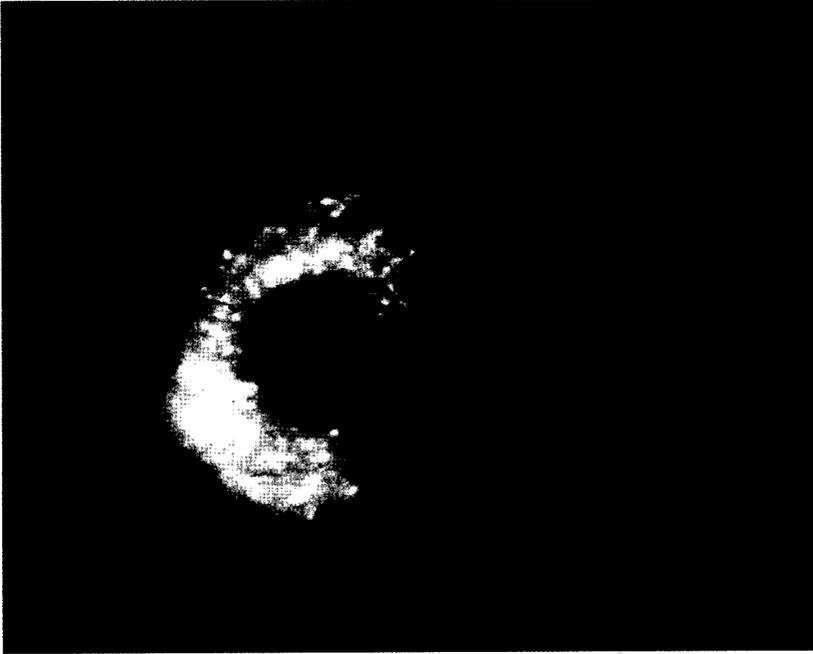
(شكل ١٤)

رسم تخطيطي للمجهر الفلورسيني ذي الشعاع النافذ



(شكل ١٥)

رسم تخطيطي للمجهر الفلورسيني ذي الشعاع الساقط

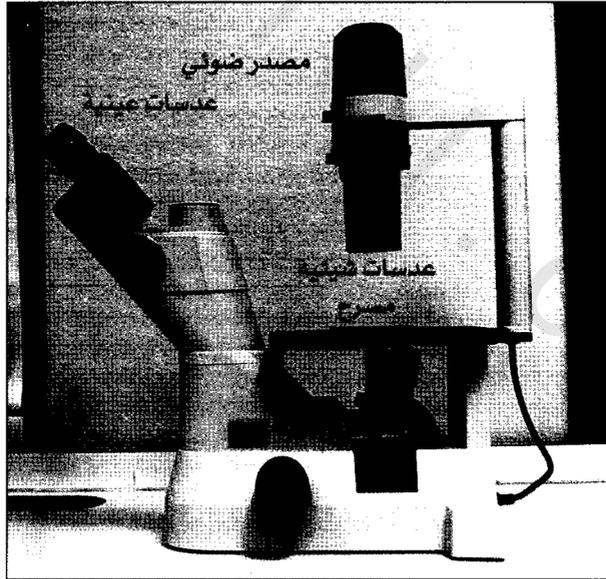


(شكل ١٦)

صورة لخلية عصبية neuron من العقد الشوكية ملتقطة بالمجهر الفلورسيني

المجهر المقلوب INVERTED MICROSCOPE

يعتمد هذا النوع من المجاهر (شكل ١٧) على جعل الضوء اللازم لإضاءة العينة يسقط عليها من أعلى، أما العدسة الشيئية اللازمة للتكبير والتمييز فتكون من أسفل مسرح المجهر. ويستخدم المجهر المقلوب في دراسة الخلايا والأنسجة المزروعة cell and tissue culture وهي ما زالت في أطباق dishes ودوارق الزراعة flasks حيث يمكن متابعة ومشاهدة ما يحدث من تطورات وتغييرات الخلية وهي ما زالت حية ومباشرة نشاطاتها الحيوية كالانقسام والتغذية والنمو.



(شكل ١٧)

صورة للمجهر المقلوب